

5

ABSTRACTS

GB9907100.3

32 ANSWER 1 OF 3 CAPLUS COPYRIGHT 1999 ACS

AN 1994:549054 CAPLUS

DN 121:149054

TI Treatment of viral, viroidal, or oncogenic diseases with steroidal
saponins or their aglycons *Act senile dementia*

IN Marks, Wolfgang

PA Germany

SO Ger. Offen., 12 pp.

CODEN: GWXXBX

DT Patent

LA German

FAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
------------	------	------	-----------------	------

PI DE 4303214	A1	19940811	DE 93-4303214	19930204
---------------	----	----------	---------------	----------

→ AB Steroidal saponins with a furostane, spirostane, furospirostane, spirosolane, or solanidine skeleton (Markush given) are useful for treatment of viral and viroidal infections, autoimmune diseases, chronic and degenerative inflammatory diseases, benign and malignant tumors, and pathogenic proliferative processes. Thus, sarsasapogenin (26 .mu.g/mL) inhibited formation of protein p24 by HIV-infected CD4+ T-cell line MOLT-4 in vitro.

===== EPODOC =====

TI - Treatment of diseases of viral, viroidal or oncogenic origin by steroid saponins or their aglycones

AB - Pharmaceuticals for the treatment of diseases of viral, viroidal or oncogenic origin containing one or more compounds with furostane, spirostane, furospirostane, spirosolane or solanidine skeleton. The example shows one way of treating HIV infections and prostate carcinomas by sarsasapogenin (3 beta -hydroxy-5 beta ,25S-spirostane).

<IMAGE>

PN - DE4303214 A 19940811

AP - DE934303214 19930204

PR - DE934303214 19930204

PA - MARKS WOLFGANG (DE)

IN - MARKS WOLFGANG (DE)

EC - A61K31/58



⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 43 03 214 A 1

⑥ Int. Cl. 5:
A 61 K 31/58

⑳ Aktenzeichen: P 43 03 214.1
㉑ Anmeldetag: 4. 2. 93
㉒ Offenlegungstag: 11. 8. 94

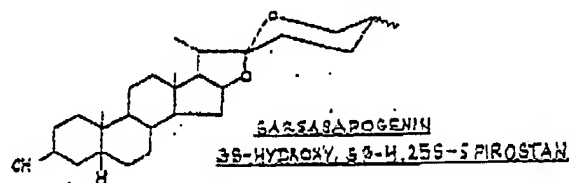
DE 43 03 214 A 1

㉑ Anmelder:
Marks, Wolfgang, 7530 Pforzheim, DE

㉒ Erfinder:
gleich Anmelder

㉓ Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler oder onkogener Genese durch Steroid-Saponine oder deren Aglykone

㉔ Arzneimittel zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler oder onkogener Genese enthaltend eine oder mehrere Verbindungen mit Furostan-, Spirostan-, Furo-Spirostan-, Spirosolan- oder Solanidin-Skelett. Das Beispiel zeigt einen Weg zur Behandlung von HIV-Infektionen und Prostata Carcinomen durch Sarsasapogenin (3 β -Hydroxy-5 β ,25S Spirostan).



DE 43 03 214 A 1

DE 43 03 214 A1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung zeigt einen Weg zur Behandlung von Erkrankungen, die durch Viren, Viroide oder Onkogene hervorgerufen werden, durch Steroid-Saponine mit Furostan-, Spirostan-, Furo-Spirostan-, Spirostan- oder Solanidin-Skelett oder deren Aglykone.

Virus-Infektionen gehören nicht erst seit der Entdeckung des HIV immer noch zu den am weitesten verbreiteten und zu den gefährlichsten, weil einer kausalen Behandlung am wenigsten zugänglichen Erkrankungen. Dies liegt zum einen an der Tatsache, daß man über Mechanismen der Transkription und der Verarbeitung von Transkripten in menschlichen Zellen wenig weiß, zum andern daran, daß sich in-vitro-Verhältnisse nur schlecht auf physiologische Vorgänge im menschlichen Organismus übertragen lassen.

In der klinischen Praxis werden zur Zeit nur wenige Virostatika angewendet: 5-Iod-2'-desoxyuridin findet Anwendung bei Karatiden, die durch das Herpes-Simplex-Virus oder das Vaccinia-Virus verursacht werden — N-Methyl-β-thiosemicarbazon wird prophylaktisch und therapeutisch bei Pockenerkrankungen und bei der Vaccinia gangraenosa und der Vaccinia generalisata eingesetzt. Die Wirkung von 1-Adamantanamine richtet sich gegen bestimmte Viren, die Erkältungskrankheiten verursachen, z. B. gegen Influenza-A-Viren.

Gegen Infektionen mit HIV werden seit geraumer Zeit verschiedene Mittel eingesetzt, von denen manche zwar spezifisch zumindest für einen gewissen Zeitraum die Progression der Krankheit hemmen, aber erhebliche Nebenwirkungen haben (Aciclovir, AZT), andere unspezifisch nicht den Krankheitserreger bekämpfen, sondern das Immunsystem in seiner Abwehrarbeit unterstützen.

Glycyrrhizin wurde als in-vitro antiviral gegen HIV wirksam beschrieben (Antiviral Research, 7 (1987), 127—137), die klinischen Tests fielen leider nicht sehr ermutigend aus.

Ein europäischer Patentantrag (EP 0 442 744 A2) befaßt sich mit der Behandlung von Virus-Erkrankungen durch Cardenolide und Bufadienolide ("herzwirksame Glykoside"). Die Antragsteller bzw. Erfinder zeigen, daß diese Stoffe im Zellfusionstest die Bildung von Riesenzellen in Herpes-simplex-infizierten Zellkulturen zu verhindern vermögen. Der Wirkungsmechanismus scheint den Antragstellern nicht bekannt — zumindest haben sie ihn nicht beschrieben.

Auch fällt auf, daß die im Antrag geschilderten Tests mit den glykosidischen Naturstoffen durchgeführt wurden — eine Behandlung in vivo dürfte bei der Höhe der benötigten Dosen und der bekannt geringen therapeutischen Bandbreite der herzwirksamen Glykoside problematisch sein.

Es ist unbestritten, daß virale Gene (Onkogene) zur malignen Transformation einer Zelle führen können. Insbesondere bei RNA-Tumoviren, den Oncornaviren, aber auch bei DNA-Tumoviren wurde eine große Zahl von Genen gefunden, die mit Tumoren oder pathogen-proliferativen Prozessen assoziiert sind.

Der Mechanismus der Tumorerzeugung selbst ist unbekannt. Es gilt jedoch als so gut wie sicher, daß die ausnahmslos stark konservierten Genprodukte der Onkogene eine entscheidende Funktion bei der Steuerung von Proliferation und Differenzierung der Zelle haben.

Eine ganze Reihe von Viren wird mit Malignomen bei Menschen in Verbindung gebracht, obwohl nur in den seltensten Fällen ein ätiologischer Zusammenhang zwischen einer Virus-Infektion und dem Malignom gesichert werden konnte. So kann eine Infektion mit dem Hepatitis-B-Virus zur Ausbildung eines hepato-zellulären Carcinoms führen, während die zu den Retroviren zählenden HTLV I und II (Human T-Cell-Leukemia-Virus) Leukämien auslösen können. Das erst in jüngster Zeit entdeckte und identifizierte Humane-Immunschwäche-Virus HIV ist zwar mit einer Reihe von Tumoren assoziiert, aber wahrscheinlich nur durch Blockierung der körpereigenen zellulären zytolytischen Mechanismen ätiologisch mit deren Entstehung verknüpft.

Der Erfinder hat über viele Jahre hinweg die Mechanismen der Genexpression in menschlichen Zellen untersucht und sich dabei insbesondere mit den Abläufen bei der Verarbeitung von Primärtranskripten zur reifen mRNA befaßt. Dabei hat der Erfinder zum einen die Interaktionen zwischen aktivierten primären HRP's (komplexe aus einem Kernmembran-Rezeptorprotein und einem Releasing-Hormon) und Histon-Proteinen bei der Genaktivierung, zum andern die biochemische Rolle von solchen Hormonen untersucht, die durch Releasing-Hormone induziert werden. Aktivierte komplexe aus diesen vom Erfinder sekundäre Transkriptionshormone genannten Botenstoffen und cytoplasmatischen Rezeptorproteinen (sekundäre HRP's) spielen bei der Verarbeitung (Processing/Spleissen) von Primärtranskripten im Spleissosom eine wichtige Rolle. Der Erfinder hat sowohl die Abläufe bei der Genaktivierung, als auch das Processing von Primärtranskripten eingehend untersucht und die daran beteiligten Faktoren größtenteils identifiziert und charakterisiert.

Bezogen auf den Spleißprozeß (das Processing) und die im Rahmen dieser Erfindung relevanten Abläufe hat der Erfinder unter anderem entdeckt,

daß ein Großteil der repetitiven Sequenzen des menschlichen Genoms Leader-Sequenzen darstellt; daß diese Leader-Sequenzen Homologien (Consensus-Sequenzen) aufweisen, sich also zu Leader-Gruppen mit identischen Consensus-Sequenzen (Leader-Codes) zusammenfassen lassen;

daß es zu diesen Leader-Codes (zu denen auch die bekannte CAAT- und die TATA-Box gehören) jeweils eine spezifische UsnRNA gibt, die eine Komplementärsequenz zu einem Leader-Code aufweist;

daß sich Leader-Codes und UsnRNAs bestimmten Hormonen zuordnen lassen;

daß eine reife mRNA immer durch Verbindung (Spleißen) von zwei parallel transkribierten Primärtranskripten entsteht, von denen das eine eine Leader-Sequenz, das andere das Primärtranskript des Gens (eine homogene oder heterogene RNA) darstellt.

Abhängig davon, ob das Primärtranskript eine homogene (monocistronische) oder heterogene (polycistronische, hnRNA) darstellt, werden die Transkripte von Leader-Sequenz und Gen anschließend weiter verarbeitet (prozessiert). Der (bereits bekannte) Vorgang des differentiellen Spleißens von hnRNA führt in verschiedenen Zellpopulationen oder in verschiedenen Differenzierungsstufen derselben Zellreihe zu unterschiedlich strukturierten mRNAs und damit zu unterschiedlichen Genprodukten.

DE 43 03 214 A1

Der Erfinder hat die Funktion von UsnRNA und Leader, die Funktion der Polyadenylierung sowie der bereits erwähnten sekundären HRP's entdeckt und das Zusammenwirken dieser und anderer Faktoren beim Processing von Primärtranskripten beschrieben.

Der Erfinder hat weiter entdeckt, daß es außer den in der Literatur erwähnten caps eine große Zahl weiterer caps gibt, die sich sowohl in Zahl und Struktur der Basen (es gibt nicht nur 1-, 2-, und 3-basige, sondern auch 4-basige caps), als auch in der Methylierung der cap-Basen unterscheiden.

Bei der Untersuchung von caps in ein- und mehrzelligen tierischen Organismen hat der Erfinder festgestellt, daß es offensichtlich eine phylogenetische Entwicklung gegeben hat von den einfachen 1-basigen (Guanin)-caps über die 2- und 3-basigen bis zu den 4-basigen caps, wie man sie nur in hochentwickelten tierischen (und menschlichen) Zellen findet. Auch hat er festgestellt, daß die Anfügung eines sogenannten poly-A-Schwanzes (Anfügen von poly-Adenylsäure-Resten an das Primärtranskript) in distalen, also definierten Größenordnungen geschieht und daß definierte Stellen des poly-A-Schwanzes spezifische Methylierungen aufweisen.

Von besonderem Interesse im Zusammenhang mit dieser Erfindung ist dabei die Tatsache, daß sich Viren offenbar bei ihrer Replikation in menschlichen Zellen einiger spezieller, phylogenetisch "junger" cap-Strukturen bedienen. Diese virusartigen cap-Strukturen werden (Ontogenese reproduziert die Phylogenese) im menschlichen Organismus dementsprechend entweder nur in den frühesten Stadien der Entwicklung oder nur in einigen wenigen Zellen des adulten Organismus gebildet, die noch auf einer relativ "niedrigen" Entwicklungs- bzw. Differenzierungsstufe stehen. Die gleichen cap-Strukturen hat der Erfinder auch bei Primärtranskripten von Onkogenen und proteinogenen Viroiden sowie bei viroidaler RNA identifiziert.

Weiter ist im Zusammenhang mit dieser Erfindung von Interesse, daß die Verbindung eines Leaders und einer homogenen oder heterogenen RNA immer durch eine spezifische UsnRNA katalysiert wird, die — wie bereits erwähnt — an einer markanten Stelle eine Komplementär-Sequenz zu der Consensus-Sequenz des Leaders aufweist. Diese UsnRNA nämlich bringt das 3'-Ende des Leaders und das 5'-Ende der zu verbindenden homogenen RNA bzw. das erste Exon der heterogenen RNA in eine Position, die es einer wiederum spezifischen Ligase ermöglicht, Leader und homogene RNA bzw. Exon miteinander zu verbinden.

Der Erfinder hat zweifelsfrei nachweisen können, daß die stereochemische Struktur des Spleissosoms und die in ihm ablaufenden Reaktionen durch die bereits weiter oben erwähnten sekundären HRP's katalysiert werden: ohne diese sekundären HRP's ist sowohl in vivo als auch in vitro die Bildung des Spleissosoms und damit die Synthese einer reifen mRNA unmöglich.

Im Zuge seiner Arbeit über die der Genexpression und dem Processing zugrundeliegenden biochemischen Prozesse ist der Erfinder auch der Frage nachgegangen, welcher biochemischen Funktion Viroidale ("nackte RNA-Mini-Viren") ihre Pathogenität verdanken. Während man bei Pflanzen verschiedene Viroidale identifiziert und ihre Wirkungen auf die Pflanze beschrieben hat, ist die Pathogenität von Viroiden in der Human-Medizin noch Gegenstand der Diskussion. Man ist sich noch nicht einmal darüber einig, ob die RNA von Viroiden für Proteine kodiert oder nicht.

Der Erfinder hat nun entdeckt, daß Viroidale entweder für (Hormon-Rezeptor)-Proteine kodieren oder ihre Pathogenität der Tatsache verdanken, daß ihre RNA-Sequenz mit der eines RNA-Leaders oder einer UsnRNA identisch ist. Die humanpathogenen Wirkungen von Viroiden beruhen also entweder auf der Beeinflussung der Genexpression oder der des Processing. Diese Beobachtungen, die im Detail noch der Überprüfung und Bestätigung bedürfen, könnten nicht nur die sogenannten slow-virus-Infektionen erklären helfen, sondern auch Erklärungen bieten für eine ganze Reihe von Krankheiten, deren virale oder viroidale Genese noch in der Diskussion oder deren Ätiologie noch gänzlich ungeklärt ist.

Zwischen den Funktionen von Viroiden und Onkogenen gibt es Parallelen: nach Feststellungen des Erfinders kodieren auch Onkogene zum Teil für cytoplasmatische Hormon-Rezeptorproteine, für Plasmamembran-Rezeptoren oder für Wachstums-Hormone (Growthfactors), die an solche Rezeptoren oder Rezeptorproteine binden. Auch können Onkogene für RNAs (UsnRNAs oder Leader-Sequenzen) kodieren, also nicht proteinogen und doch pathogen sein. Eine Differenzierung zwischen Onkogen und Viroid ist also im Grunde nicht durch deren Struktur oder Funktion, sondern nur durch ihre pathogenen Wirkungen in der jeweiligen Zelle möglich.

Wie eng die Verwandtschaft zwischen Viroiden oder viralen Genen und Onkogenen ist, zeigt die Tatsache, daß zwischen dem Onkogen abl — das in Mäusen die sogenannte Abelson-Leukämie verursacht — und dem Gen "tat" des humanen Immunschwäche-Virus HIV-1 eine 90%ige Sequenz-Homologie besteht.

Für die Integration von humanpathogenen Viroiden oder viralen Onkogenen ins Zellgenom kommen verschiedene Mechanismen in Betracht, die hier nicht im Detail diskutiert werden sollen: außer durch Onkoviren werden Viroidale/Onkogene mit hoher Wahrscheinlichkeit auch durch andere RNA-Viren (Retro-, Keco-, Calci-, Picorna-, Corona-, Orthomyxo-, Paramyxoviren) als Vektoren in den menschlichen Organismus eingeschleust und durch Reverse Transkription oder RNA/DNA-Hybridisierung und Plasmid bzw. Episom-Bildung ins Zellgenom inseriert.

Da die Pathogenität von Viroiden oder Onkogenen nach Erkenntnissen des Erfinders also eng mit der Genexpression und dort zu einem erheblichen Teil mit den Mechanismen des Spleißprozesses korreliert ist, ist die Blockierung der pathogenen viroidalen oder onkogenen Mechanismen im Prinzip auf dem gleichen Wege wie bei viralen Genen möglich.

Bei seinen Untersuchungen und Experimenten zur Analyse der Vorgänge im Spleißosom hat der Erfinder sich verschiedener Naturstoffe bedient, um die einzelnen Stufen des Processing in bestimmten Stadien wirksam unterbrechen und untersuchen zu können.

Dabei hat er entdeckt, daß eine Reihe von steroidalen und den Steroiden verwandten Naturstoffen, die in pflanzlichen, zum Teil aber auch in tierischen Organismen an einer hormonellen oder hormon-analogen Steuerung der Transkription und der Verarbeitung der Transkripte beteiligt sind, in Abhängigkeit von Struktur und Methylierung des caps und der Methylierung einer definierten Zahl von Basen am 5'-Ende des Leaders, von Zahl

DE 43 03 214 A1

und Methylierung der poly-A-Reste und der Komplementär-Sequenz der UscRNA auch oder besser gerade in humanen Zellen sehr spezifisch das Processing homogener und heterogener (monocistronischer und polycistronischer) viraler und viroidaler/onkogener RNA zu inhibieren vermögen.

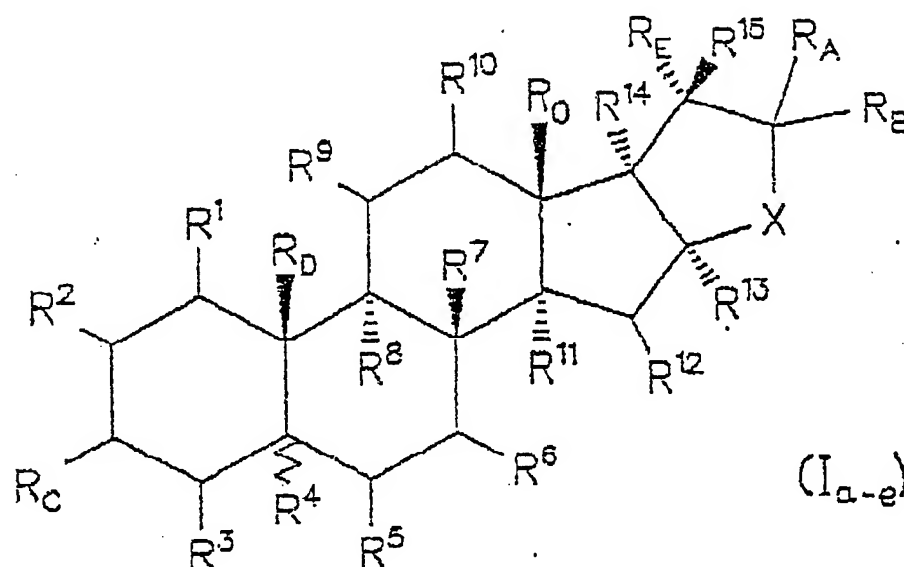
Die dem Antrag zugrunde liegenden Naturstoffe, die eine größere Affinität zu den Bindungsstellen des Spleissosoms haben, verdrängen die sekundären HRP's (Phylogenese dominiert die Ontogenese) von ihren Bindungsstellen und verhindern damit die Bildung der funktionsgerechten Konformation des Spleissosoms.

Unter dem Einfluß der genannten Naturstoffe werden die Synthese spezifischer viraler mRNAs, die Synthese von unphysiologischen pathogenen, durch Viroide oder zelluläre onkogene Gene kodierten Proteinen (Growth-factors, Rezeptorproteine) und die pathogenen Wirkungen von onkogen kodierter RNA oder Viroid-RNA (falsche UscRNAs, falsche Leader) in vitro und in vivo gehemmt.

Bis heute ist die Ätiologie einer großen Zahl von Krankheiten bei Mensch und Tier ungeklärt. Dazu gehören nicht nur solche Erkrankungen wie Multiple Sklerose, das Parkinson-Syndrom, die Alzheimersche Erkrankung, bestimmte Leukämien und Erythrmien, die meisten Neoplasien oder Kuru und Scrapie, bei denen eine virale oder subvirale bzw. viroidale oder onkogene Ätiologie schon mehr oder weniger ernsthaft diskutiert wird, sondern insbesondere auch die chronisch entzündlichen oder degenerativen Erkrankungen des Halte- und Bewegungsapparates (Krankheiten des rheumatischen Formenkreises, die Arthrosen und Arthritiden/ Gicht), die Auto-Immunkrankheiten, aber auch der insulin-abhängige Diabetes und die Psoriasis-Krankheiten, bei denen bis heute kaum jemand an eine virale bzw. viroidale Ursache denkt. Der Erfinder ist sich allerdings sicher, daß ein erheblicher Teil dieser Erkrankungen mit unbekannter oder unklarer Genese durch Viren bzw. von diesen importierte subvirale Einheiten (Viroide/Onkogene) verursacht wird und durch die in seinem Antrag zusammengefaßten Naturstoffe einer kausalen Therapie zugänglich gemacht werden kann.

Die vorliegende Erfindung zeigt zum ersten einen Weg zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler und onkogener Genese durch Verabreichung der wirksamen Menge einer Substanz der allgemeinen Formel (Ia-e)

DE 43 03 214 A1



Furostone (a)	Spirostone (b)	Furo-Spirostone (c)	Spirostone (d)	Selenidone (e)
$R_A = \text{CH}$ $R_B =$	$R_A = \text{O}$ $R_B =$	$R_A =$	$R_A = \text{H}$ $R_B =$	$R_A = \text{H}$ $R_B =$
X =	O	O	O	H—R _C
R _C =	O, H, CH, NH ₂	O, CH, H, NH ₂	O, H, CH, NH ₂	O, CH, H, NH ₂
R _D =	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R _E =	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH
R _F =	—	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂

für die allgemein gilt,

daß der Substituent R7 stets β -ständig, die Substituenten R9, R11, R13 und R14 stets α -ständig sind — die Ringe B/C und C/D also stets trans- und die Ringe D/E stets cis-verknüpft sind. Die Ringe A/B können sowohl cis- (5 β -R4) als auch trans-verknüpft (5 α -R4) sein. Zwischen C4 und C5, C5 und C6, C12 und C13 sowie zwischen C13 und C14 kann eine Doppelbindung vorliegen. Die Konfiguration an C22 und C25 kann jeweils R oder S sein.

Weiter gilt:

Die Substituenten R1, R2, R3, R4, R5, R6, R9, R10, R12, R16, R17, R18 und R19 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder eine Amino-Gruppe in α - oder β -Stellung sein.

R8, R11, R13 und R14 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder Amino-Gruppe in α -Stellung sein. Wenn zwischen C12 und C13 oder C13 und C14 eine Doppelbindung vorliegt, entfällt R0. R14 kann dann eine Methylgruppe oder ein H-Atom sein.

Wenn der Ring A aromatisch ist, entfallen die Substituenten R4 und RD. R1 und R3 können dann unabhängig voneinander eine Methyl- oder Hydroxymethylgruppe sein.

R7 und R15 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder eine Amino-Gruppe in β -Stellung,

R1, R2, R3, R5, R6, R9, R10, R12, R16, R17 und R19 unabhängig voneinander eine Oxogruppe sein.

Außerdem gilt, daß Hydroxy- oder Amino-Gruppe mit einem Zucker glykosidiert, mit einem Alkohol alkylert oder mit einer Säure acyliert sein kann.

Zum zweiten einen Weg zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler und onkogener Genese durch Verwendung eines Arzneimittels, dessen aktiver Bestandteil eine Substanz der allgemeinen Formel (Ia-e) ist zum dritten einen Weg zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler und onkogener Genese durch

DE 43 03 214 A1

Verwendung eines Arzneimittels, dessen aktiver Bestandteil mehrere Substanzen der allgemeinen Formel (Ia-e) in einem beliebigen Mischungsverhältnis sind und viertens einen Weg zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler und onkogener Genese durch Verwendung eines Arzneimittels, dessen aktiver Bestandteil eine oder mehrere Substanzen der allgemeinen Formel (Ia-e) in einem beliebigen Mischungsverhältnis sind, in Verbindung mit Zusätzen, Hilfs- und Trägerstoffen, Lösungsmitteln und/ oder Lösungsvermittlern, wie sie in der galenischen Pharmazie üblich oder möglich sind.

Es ist allgemein bekannt, daß viele der Steroid-Saponine, auf die sich die vorliegende Erfindung bezieht, ein gemeinsames Aglykon (Genin, Sapogenin) aufweisen, sich also nur in Form, Zusammensetzung und Anbindung der Zucker unterscheiden. Es ist auch allgemein anerkannt, daß die physiologisch wirksame Gruppe von Steroid-Saponinen (z. B. bei den herzwirksamen Glykosiden), also auch Verbindungen der Formel (Ia-e) das Aglykon oder Genin ist. Die Substanzen, die mit diesem Antrag unter Schutz gestellt werden sollen, zeichnen sich dadurch aus, daß sie ein Furostan-, Spirostan-, Furo-Spirostan-, Spirosolan- oder Solanidin-Skelett aufweisen.

Typische Beispiele für die der Erfindung zugrundeliegenden Stoffe sind die Sapogenine Alliogenin, Agigenin, 2-O-Ac-Epimastogenin, Barogenin, Chlorogenin, Convallagenin A und B, Convallamarogenin, Demissidin, Digalogenin, Digitogenin, Diosgenin, Eduligenin, Epidiosgenin, Episcieptrungenin, Epiruscogenin, Gentrogenin, Gito-genin, Hecogenin, Heloniogenin, Hispigenin, Igagenin, Isocarneagenin, Isonarthogenin, Isoplexigenin, Isorcinek-kiagenin, Isorhodeasapogenin, Isorubijervin, Isojurtubidin, Jurubidin, Karatavogenin, Kitogenin, Kogagenin, Kryptogenin, Laxogenin, Leptinidin, Lowegenin, Luvigenin, Manogagenin, Markogenin, Metagenin, Matengagenin, Mexogenin, Neogagenin, Neosapiogenin, Neochlorogenin, Neogitogenin, Neonogiragenin, Neotigogenin, Neo-tokorogenin, Nogiragenin, Nologenin, Nuatigenin, Paniculogenin, Pennogenin, Protometagenin, Reinecklagenin, Rhodeasapogenin, Rockogenin, Rubijervin, Ruscogenin, Samogenin, Sarsasapogenin, Sisalagenin, Smilagenin (Neosarsasapog.), Soladulcin, Soladunalinidin, Solagenin, Solanaviol, Solasodenon, Solasodin, Solasonin, Trille-nogenin, Tigogenin, Tokorogenin, Tomatinin, Veramin, Yonogenin, Yuccagenin, Yamogenin und ihre jeweiligen Glykoside.

Die Substanzen nach Formel (Ia-e) können entweder durch Extraktion und Reinigung aus natürlichen Quellen (z. B. Pflanzen der Familien Liliaceae, Amaryllidaceae, Smilacaceae, Cactaceae, Trilliaceae, Dioscorea-ceae, Balanitaceae, Agavaceae, Zygophyllaceae, Solanaceae, Ruscaceae, Scrophulariaceae oder Ranunculaceae) oder durch allgemein bekannte chemische Verfahren unter Kondensation eines Aglykons mit einer physiolo-gisch verträglichen Gruppe (Zucker, Alkyl- oder Acyl-Reste) dargestellt werden.

Modifikationen an einem oder mehreren beliebigen C-Atomen, die statt eines H-Atoms, einer Hydroxy-, Amino-, Carbonylgruppe oder einer glykosidierten, alkylierten bzw. acylierten Hydroxy- oder Aminogruppe eine andere physiologisch verträgliche Gruppe vorsehen, haben einen nur indirekten Einfluß auf die Wirkung des Arzneimittels, nämlich nur auf Art und Geschwindigkeit seiner Resorption. Das bedeutet, daß die Stoffe oder Verbindungen, die durch diesen Antrag unter Schutz gestellt werden sollen, auch solche Derivate und Substrate einschließen, deren Anwendung im Sinne dieser Erfindung durch metabolische Prozesse im Organismus zu Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia-e) führt.

Der Begriff Zucker-Gruppe ist im weitesten Sinne aufzufassen. Die im folgenden beschriebenen Zucker sind deshalb nur als unvollständige Beispiele gedacht.

Unter dem Begriff Zucker sind Mono-, Oligo- und Polysaccharide zu verstehen, die linear oder verzweigt aufgebaut sein können. Typische Zucker sind zum Beispiel Glukose, Galaktose, Rhamnose, Xylose, Pyranose, Quinovose, Apiose, Arabinose, Furanose, L-Fucose, Mannose, Timobiose, Chacotriose, Lycotetraose oder Digi-topentaose. Der Begriff Zucker oder Zucker-Gruppe schließt auch die jeweiligen Isomeren und anomeren Formen sowie evtl. Modifikationen der Zuckermoleküle mit ein.

Als Acylgruppen kommen insbesondere organische Carbonsäuren in Frage, die der aliphatischen, cycloalipha-tischen, aromatischen, aromatisch-aliphatischen oder heterocyclischen Reihe angehören wie z. B. Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Isobuttersäure, Valeriansäure, Isovaleriansäure, Capronsäure, Onan-thsäure, Caprylsäure, Palargonsäure, Caprinsäure, Undecylsäure, Laurinsäure, Trimethylessigsäure, tert. Butyl-essigsäure, Cyclopentylessigsäure, Diäthylaminoessigsäure, Morpholinoessigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Adipinsäure, Benzoesäure und Nikotinsäure.

Als anorganische Säuren kommen u. a. Schwefel- oder Phosphorsäure in Betracht.

Die Ester einiger Säuren können gegebenenfalls mit Alkali in die wasserlöslichen Salze überführt werden.

Als Alkylgruppen kommen die Alkohole der entsprechenden organischen Säuren in Frage.

Der in diesem Antrag verwendete Begriff "Behandlung" beinhaltet: alle Formen der Behandlung von Krank-heiten viraler, viroidaler und onkogener Genese, insbesondere die Vorsorge, Verhütung, Kontrolle, Besserung und Heilung.

Die Formulierung "Erkrankungen viraler, viroidaler oder onkogener Genese" bezieht sich auf die Fähigkeit der dem Antrag zugrundeliegenden Stoffe, im menschlichen oder tierischen Organismus

- a) die Synthese viraler mRNA und damit die Vermehrung (Replikation) von Viren zu hemmen oder vollständig zu unterdrücken sowie
- b) die Synthese pathogener mRNAs zu hemmen oder vollständig zu unterdrücken, die durch Viroide oder Onkogene verursacht wird sowie
- c) die pathogenen Wirkungen von Viroiden oder Onkogenen zu hemmen oder vollständig zu unterdrücken, die durch Mismanagement von Mechanismen der Genexpression oder des Processings verursacht werden.

Dies schließt also analog zum weiter oben Gesagten auch chronisch entzündliche und entzündlich degenerati-

DE 43 03 214 A1

ve, neoplastische und/oder pathogen-proliferative Prozesse sowie Krankheiten ein, die durch Onkogene verursacht werden.

Zu den Krankheiten, die mit einem erfindungsgemäßen Arzneimittel behandelt werden können, gehören insbesondere Infektionen mit

Retro-Viridae (alle HIV-Serotypen, HTLV I und HTLV II), Oncornaviridae, Herpes-Viridae (Alpha-, Beta- und Gammaherpesviren), Parvoviridae, Pox- und Parapoxviridae, Picornaviridae (alle Rhinoviren, Cardioviren, Coxsackie A und B, Echoviren, Enteroviren (Hepatitis A), Hepatitis-B-Virus und Delta-Agens, Polio I, II, III, Calici-Viridae, Orbiviridae, Rubiviridae, Orthomyxoviridae (Influenza A, B, C), Paramyxoviridae (Parainfluenza, Mumps), Bunyaviridae, Arenaviridae, NANB-Hepatitis-Viren, Norwalk-, Ebola- und Marburg-Viren.

Zu den Krankheiten, die nach Erkenntnissen des Erfinders direkt oder indirekt durch Viren und/oder Viroide verursacht werden und deshalb mit einem erfindungsgemäßen Arzneimittel behandelt werden können, gehören z. B.

das Parkinson-Syndrom, die Alzheimersche Erkrankung, Arthrosen und Arthritiden/Gicht, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Asthma, die Nephropathia epidemica, Multiple Sklerose, der insulinabhängige Diabetes mellitus, Neuritiden, Dermatiden, Auto-Immunkrankheiten und die Psoriasis.

Weiter gehören zu den Krankheiten, die nach den Erkenntnissen des Erfinders mit einem erfindungsgemäßen Arzneimittel behandelt werden können, benigne und maligne Tumore, insbesondere des Magen-Darm-Trakts, der Lungen, des Gehirns, der Haut und des Genitale (insbesondere Prostata-Karzinome und -sarkome, Zervix- und Mammakarzinome, Blasenhalssadenome), aber auch pathogen proliferative oder neoplastische Prozesse wie Leukämien, Erythämien und Erythro-Leukämien.

Ein erfindungsgemäßes Arzneimittel kann in gelöster Form oder in Form einer pharmazeutischen Zubereitung intravenös, intramuskulär, oral und rektal verabreicht werden oder auch für die externe Anwendung (z. B. bei durch Herpes-simplex verursachten Läsionen) zu Salben, Cremes, Pudern, Lotions, Ölen oder Emulsionen verarbeitet werden. Für die orale Anwendung kommen insbesondere Tabletten oder Kapseln — auch magensaft-resistente — in Frage. Für die Injektion oder Infusion kommen die bekannten Lösungs- und Aufbereitungsverfahren zur Anwendung.

Die wirksame Dosis eines erfindungsgemäßen Arzneimittels hängt außer von der jeweils verwendeten spezifischen Substanz nach Formel (Ia—e) von einer Reihe weiterer Faktoren ab, wie z. B. Art und Schwere der Erkrankung, Allgemeinzustand und Alter des Behandelten sowie — bei HIV-Infektionen/AIDS zum Beispiel — von Art und Schwere der assoziierten Infektionen und Erkrankungen. Im allgemeinen dürfte die Dosis bei interner Anwendung pro kg/ pro Tag zwischen 0,5 mg und 15 mg und damit etwa in der Größenordnung bakterieller Antibiotika liegen. Die wirksame Dosis kann in Einzelfällen aber auch wesentlich über oder unter dieser Dosis liegen. Die Gesamtdosis kann auf 2 bis 6 Gaben pro Tag verteilt werden.

Bei externer Anwendung sollte die Konzentration der Substanz nach Formel (Ia—e) zwischen 50 und 1000 Mikrogramm (0,05 bis 1 mg) pro Gramm Arzneimittel-Grundlage betragen.

Im Folgenden wird an Hand von Beispielen die Wirkung einer Substanz nach Formel (Ia—e) aufgezeigt.

Beispiel 1:

Eine chronisch HIV-infizierte CD4⁺ T-Zell-Linie (MOLT-4, ATCC CRL 1582, J. Minowada, Roswell Park Memorial Institute, Buffalo, New York) wurde über einen Zeitraum von 7 Tagen in Anwesenheit von Sarsasapogenin (3 β -Hydroxy-5 β ,25S Spirostan) kultiviert.

Kontroll-Kulturen wurden während des gleichen Zeitraums mit Lösungsmittel behandelt.

Die Zellen wuchsen in 50 cm³-Kulturflaschen in 5 ml eines RPMI 1640-Mediums mit einem Zusatz von 10% fetalem Kälber-Serum (FCS) bei 37° Celsius und 5% CO₂-Begasung.

Während die zu therapierenden Kulturen in Abständen von etwa 6 Stunden mit 200 μ l (entsprechend 26 μ g Sarsasapogenin pro ml Medium) einer Stocklösung (0,65 mg Sarsasapogenin in 1 ml 45%igem Glycerol gelöst) behandelt wurden, erhielten die Kontrollen die gleiche Menge 45%iges Glycerol.

Um eine Anreicherung des Lösungsmittels in den Kulturen zu vermeiden, wurden die Zellen vor jedem Nachdosieren mit 1000 rpm fünf Minuten zentrifugiert, das alte Medium verworfen und das Pellet in frischem Medium aufgenommen.

Nach 7 Tagen (gleich 28 Behandlungsschritten) wurden Proben der Kulturüberstände für den HIV-1 p24 Core-Profil ELISA-Test (DU PONT Nen) entnommen, gemäß Originalprotokoll verarbeitet und die jeweiligen-Gehalte an p24 ermittelt.

Beispiel 2:

Eine chronisch HIV-infizierte CD4⁺ T-Zell-Linie (MOLT-4, ATCC CRL 1582, J. Minowada, Roswell Park Memorial Institute, Buffalo, New York) wurde über einen Zeitraum von 7 Tagen in Anwesenheit von Sarsasapogenin (3 β -Hydroxy-5 β ,25S Spirostan) kultiviert.

Kontroll-Kulturen wurden während des gleichen Zeitraums mit Lösungsmittel behandelt.

Die Zellen wuchsen in 50 cm³-Kulturflaschen in 5 ml eines RPMI 1640-Mediums mit einem Zusatz von 10% fetalem Kälber-Serum (FCS) bei 37° Celsius und 5% CO₂-Begasung.

Während die zu therapierenden Kulturen in Abständen von 12 Stunden mit 200 μ l (entsprechend 26 μ g Sarsasapogenin pro ml Medium) einer Stocklösung (0,65 mg Sarsasapogenin in 1 ml 45%igem Glycerol gelöst) behandelt wurden, erhielten die Kontrollen die gleiche Menge 45%iges Glycerol.

Um eine Anreicherung des Lösungsmittels in den Kulturen zu vermeiden, wurden die Zellen vor jedem Nachdosieren mit 1000 rpm fünf Minuten zentrifugiert, das alte Medium verworfen und das Pellet in frischem

DE 43 03 214 A1

Medium aufgenommen.

Nach 7 Tagen wurden Proben der Kulturüberstände für den HIV-1 p24 Core-Profil-ELISA-Test (DU PONT) entnommen, gemäß Originalprotokoll verarbeitet und die jeweiligen Gehalte an p24 ermittelt.

In beiden Testreihen war der Gehalt an HIV-1 p24 in den mit Sarsasapogenin behandelten Kulturen gegenüber den lediglich mit Glycerol behandelten Kulturen deutlich (jeweils um 45%) vermindert.

Zytotoxische Effekte wurden bei den verwendeten Konzentrationen nicht beobachtet.

Obwohl sich mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Verwendung eines anderen Sapogenins unter den gewählten in-vitro-Bedingungen eine Inhibition der Replikation von HIV bis zu 100% hätte erreichen lassen, hat der Erfinder Sarsasapogenin (3 β -Hydroxy-5 β ,25S Spirostan) für die in-vitro-Tests ausgewählt, weil er auf Grund seiner Kenntnis der Replikations- und Spleissmechanismen davon überzeugt ist, daß diese Substanz in-vivo die Replikation von HIV in allen durch das Virus infizierten oder infizierbaren Zellen zuverlässig verhindert.

Wie u. a. das Beispiel Glycyrrhizin zeigt, sind in-vitro Ergebnisse nicht immer auf in-vivo-Verhältnisse projizierbar. Letztlich ist die vom Erfinder postulierte Wirkung eines erfindungsgemäßen Arzneimittels nur in vivo nachzuweisen, da die selektivinhibierende Wirkung von Substanzen der Formel (Ia-e) auf spezifische virale, viroide oder onkogene mRNAs — wie weiter oben bereits ausgeführt — auf der kompetitiven Hemmung von aktivierten Komplexen (HRPs) aus einem humanen (Processing-) Hormon und einem Rezeptorprotein beruht. Der Ersatz von Humanserum durch Fetales-Kälber-Serum (FCS), der wohl weniger aus Kostengründen, als aus Gründen der weltweiten Standardisierung der in-vitro-Testsysteme erfolgt, mußte die Wirkung eines erfindungsgemäßen Arzneimittels vorhersehbar beeinträchtigen.

Hinzu kommt, daß die Regulation der Replikation von HIV unter physiologischen Bedingungen (in-vivo) letztlich nicht 100%ig durch in-vitro Testsysteme reproduzierbar ist. Auch sind Interferenzen oder Wechselwirkungen zwischen den onkogenen Mechanismen der Immortalisierung der Testzellen und viralen Transkriptions- und Regulationsmechanismen nicht mit Sicherheit auszuschließen.

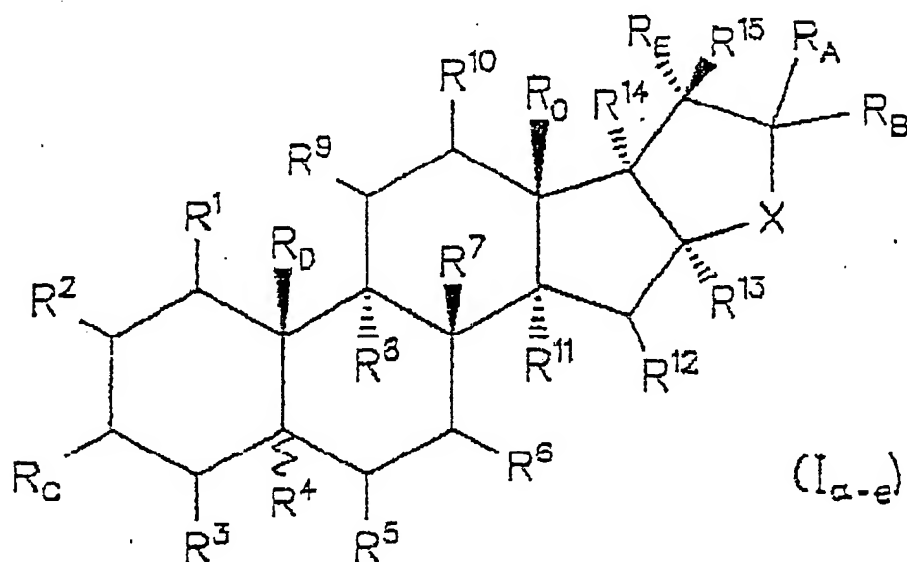
Beispiel 3:

Der Erfinder, der seit einiger Zeit an einer Prostata-Geschwulst und daraus resultierenden Miktionsstörungen leidet, hat sich — obwohl er sich der mangelnden Aussagekraft eines solchen Tests bewußt ist — einem Selbster Versuch unterzogen und über einen Zeitraum von 8 Wochen beginnend mit 2 \times 250 mg pro Tag bis zu 2 \times 800 mg Sarsasapogenin pro Tag eingenommen. Er hat dabei eine objektive Besserung seiner Beschwerden beobachtet: nach ca. 14 Tagen waren die Miktionsstörungen so gut wie behoben — nach 4 Wochen völlig verschwunden und die Geschwulst nicht mehr tastbar. Demgegenüber konnte der Erfinder keine pathologischen Reaktionen oder Veränderungen an sich selbst beobachten. Auch seine Blutbilder waren während der Laufzeit des Versuchs ohne pathologischen Befund.

Patentansprüche

1. Arzneimittel, enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia-e)

DE 43 03 214 A1



Furostane (a)	Spirostane (b)	Furo-Spirostane (c)	Spirostane (d)	Selenidene (e)
$R_A = OH$ $R_B =$	$R_A = O$ $R_B =$	$R_A =$	$R_A =$	$R_A = H$ $R_B =$
X =	O	O	O	N-R ₂
R ₂ =	O, H, OH, NH ₂	O, OH, H, NH ₂	O, H, OH, NH ₂	O, OH, H, NH ₂
R ₃ =	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R ₄ =	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH
R ₅ =	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂

Für die allgemein gilt,

daß der Substituent R7 stets β -ständig, die Substituenten R8, R11, R13 und R14 stets α -ständig sind — die Ringe B/C und C/D also stets trans- und die Ringe D/E stets cis-verknüpft sind. Die Ringe A/B können sowohl cis- ($\beta\beta$ -R4) als auch trans-verknüpft ($\alpha\alpha$ -R4) sein. Zwischen C4 und C5, C5 und C6, C12 und C13 sowie zwischen C13 und C14 kann eine Doppelbindung vorliegen. Die Konfiguration an C22 und C25 kann jeweils R oder S sein.

Weiter gilt:

Die Substituenten R1, R2, R3, R4, R5, R6, R9, R10, R12, R16, R17, R18 und R19 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder eine Amino-Gruppe in α - oder β -Stellung sein.

R8, R11, R13 und R14 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder eine Amino-Gruppe in α -Stellung sein. Wenn zwischen C12 und C13 oder C13 und C14 eine Doppelbindung vorliegt, entfällt R0. R14 kann dann eine Methylgruppe oder ein H-Atom sein.

Wenn der Ring A aromatisch ist, entfallen die Substituenten R4 und RD. R1 und R3 können dann unabhängig voneinander eine Methyl- oder Hydroxymethylgruppe sein.

R7 und R15 können unabhängig voneinander ein H-Atom, eine Hydroxy- oder eine Amino-Gruppe in β -Stellung

R1, R2, R3, R5, R6, R9, R10, R12, R16, R17 und R19 unabhängig voneinander eine Oxogruppe sein.

Außerdem gilt, daß jede Hydroxy- oder Amino-Gruppe mit einem Zucker glykosidiert, mit einem Alkohol alkyliert oder mit einer Säure acyliert sein kann.

2. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia).

3. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Ib).

DE 43 03 214 A1

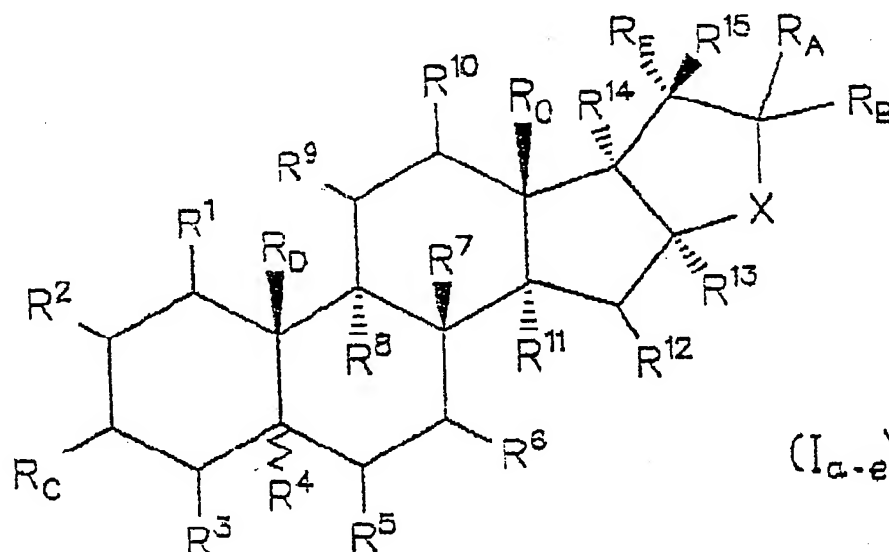
4. Arzneimittel nach Anspruch 3, worin X ein Sauerstoff-Atom, RC eine Hydroxy-, RD, RE und RF eine Methylgruppe sind.
5. Arzneimittel nach Anspruch 3, worin X ein Sauerstoff-Atom, RC eine Hydroxy-, RD, RE und RF eine Methylgruppe, R4 ein H-Atom in β -Stellung, R1 bis R3, R5 bis R19 jeweils ein H-Atom sind und die Konfiguration an C25 = S ist.
6. Arzneimittel nach Anspruch 3, worin X ein Sauerstoff-Atom, RC eine Zucker-Gruppe, RD, RE und RF eine Methylgruppe, R4 ein H-Atom in β -Stellung, R1 bis R3, R5 bis R19 jeweils ein H-Atom sind und die Konfiguration an C25 = S ist.
7. Arzneimittel enthaltend Sarsasapogenin.
8. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Ic).
9. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Id).
10. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel (Ie).
11. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen viraler, viroidaler oder onkogener Genese.
12. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Virus-Infektionen, Auto-Immunkrankheiten, von chronisch-entzündlichen und entzündlich-degenerativen Prozessen, von benignen und malignen Tumoren und neoplastischen oder pathogen-proliferativen Prozessen.
13. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von benignen und malignen Tumoren des Magen-Trakts, der Lungen, des Gehirns, der Haut und des Genitale (Prostata-Karzinome und -sarkome, Zervix- und Mammakarzinome, Blasenhalsadenome) und zur Behandlung von Leukämien, Erythämien und Erythroleukämien.
14. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung des Parkinson-Syndroms, der Alzheimerschen Krankheit, von Arthrosen und Arthritiden, chronischer Polyarthritus, Spondylitis ankylopoetica, Arthrosis deformans, Rheuma, Gicht, Asthma, der Nephropathia epidemica, des insulinabhängigen Diabetes, von Neuritiden, Dermatiden und der Psoriasis.
15. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Prostata-Tumoren und Blasenhalsadenomen.
16. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch Viren hervorgerufen werden.
17. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch RNA-Viren hervorgerufen werden.
18. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch Retroviren und Oncornaviren hervorgerufen werden.
19. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch Retroviren hervorgerufen werden.
20. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch das Humane-Immunschwäche-Virus (HIV — alle Serotypen) hervorgerufen werden.
21. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 9 zur Behandlung von Erkrankungen, die durch das Humane-Immunschwäche-Virus-1 (HIV-1/HTLV 1) hervorgerufen werden.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

ZEICHNUNGEN SEITE 1

Nummer:
Int. Cl.5:
Offenlegungstag:

DE 43 03 214 A1
A 61 K 31/58
11. August 1984



Furostone (a)	Spirostone (b)	Furo-Spirostone (c)	Spirostone (d)	Solanidine (e)
$R_A = \text{OH}$ $R_B =$	$R_A = \text{O}$ $R_B =$	$R_A = \text{O}$ $R_B =$	$R_A = \text{H}$ $R_B =$	$R_A = \text{H}$ $R_B =$
X = O	O	O	O	H-R ₆
R ₆ = O, H, OH, NH ₂	O, OH, H, NH ₂	C, H, OH, NH ₂	O, H, OH, NH ₂	O, OH, H, NH ₂
R ₇ = CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R ₈ = CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH	CH ₃ , CH ₂ OH
R ₉ = —	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂	CH ₃ , CH ₂ OH, =CH ₂

ZEICHNUNG ①

ZEICHNUNGEN SEITE 1

Nummer:

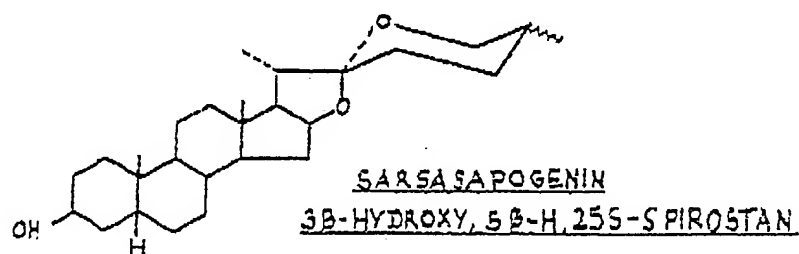
DE 43 03 214 A1

Int. Cl.³:

A 61 K 31/58

Offenlegungstag:

11. August 1994



ZEICHNUNG ②